

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭64-61499

⑪ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和64年(1989)3月8日

C 07 K 15/04
A 61 K 39/395
43/008318-4H
S-7252-4C
7252-4C※

審査請求 未請求 請求項の数 8 (全5頁)

⑭ 発明の名称 ヒト乳頭腫ウイルス16型のE7タンパク質に対するモノクローナル抗体、それらの製造法および使用

⑮ 特 願 昭63-172513

⑯ 出 願 昭63(1988)7月11日

優先権主張 ⑰ 1987年7月11日 ⑱ 西ドイツ(DE) ⑲ P3722967.2

⑳ 発 明 者 テイルマン、オルター ドイツ連邦共和国ハイデルベルク、ザンクト・アンナ・ガ
ストルフ ツセ、13

㉑ 出 願 人 ベーリングベルケ、ア ドイツ連邦共和国マールブルク、1
クチエンゲゼルシャフ
ト

㉒ 代 理 人 弁理士 佐藤 一雄 外2名
最終頁に続く

明 細 書

1 発明の名称

ヒト乳頭腫ウイルス16型のE7タンパク質に対するモノクローナル抗体、それらの製造法および使用

2 特許請求の範囲

1. HPV16のE7タンパク質と反応する、モノクローナル抗体様E7 I、E7 II、E7 III、E7 IV、E7 VおよびE7 VI。

2. 請求項1に記載のモノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマ。

3. 哺乳動物をHPV16からのE7タンパク質で免疫して、そのような動物から脾臓細胞を取り出してNS-1ミエロマ細胞と融合させて、HPV16 E7に対するモノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを選択することと特徴とする、請求項2に記載のハイブリドーマを形成する方法。

4. 請求項1に記載のモノクローナル抗体の、診断用補助物における使用。

5. 請求項1に記載のモノクローナル抗体の、薬物活性化化合物のための担体としての使用。

6. 請求項1に記載のモノクローナル抗体の、治療用薬としての使用。

7. 請求項1に記載のモノクローナル抗体の標識したものの、診断用補助物としてのまたは組織および体液の分析および放射性免疫測定(radioimmunoscintigraphy)のための使用。

8. 請求項1に記載のモノクローナル抗体の標識したものの、放射性免疫療法または化学免疫療法のための治療用薬としての使用。

3 発明の詳細な説明

ヒト乳頭腫ウイルス(human papillomavirus)(HPV)は、良性(疣贅、生殖器領域の癌)および悪性(皮膚および生殖器粘膜の癌)の上皮性新生物に関連して見出された。乳頭腫ウイルスは培養では増殖できないことから、ある程度の

特開昭64-61499(2)

量のウイルスタンパク質を得るためには遺伝子工学的方法が要求される。これらの方法は、最近、HPVでコードされる数種のタンパク質に対するポリクローナル抗体の調製に用いられた。また一方で、これらのポリクローナル抗体を、頸管癌腫に由来するHPV-陽性細胞系において数種のウイルスタンパク質を検出するために用いることが可能であった[Seedorfら:(1987) EM80 J. 8, 139-144, D. Smotkin および F. O. Vettstein:(1988), Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85, 4680-4684, および D. Smotkin および F. O. Vettstein:(1987), J. Virol. 81, 1686-1689]。

本発明は、ヒト乳頭腫ウイルス16の15kdの大きさのE7タンパク質(HPV16E7)に対するモノクローナル抗体(MAb)に関する。これらの抗体は、診断用補助物、活性化化合物または活性化化合物担体として用いることができる。分泌されたE7 MAb(E7I-E7VI)の特徴づけをした6個のハイブリドーマを得ることが可能であった。MS-2/HPV16E7融合タンパク

質を固相上に吸着させた酵素免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay)(ELISA)においては、すべてのMAbが陽性反応を示した(下記を参照されたい)。対応するウエスタンブロットでE7IIIは反応を示さなかった。HPV16を含有する細胞系では、E7タンパク質は、ウエスタンブロットではE7II、E7IV、E7VおよびE7VIが、また免疫沈降においてはE7IIおよびE7IVが検出されたが、E7IIIおよびE7Vについては試験しなかった(表1)。拮抗的結合試験においてE7II、E7IV、E7VおよびE7VIは強い阻害的性質を示したが、E7IIIによる阻害はより弱いと有意であった。E7II、VおよびVI混合物は、HPV16E7-特異性RNAのインビトロ翻訳反応混合物からのHPV16E7を沈降させた。このことは、同様に、これらMAbの特異性を証明するものである。E7IIIは、HPV18E7と交差反応する。E7はHPV18-またはHPV18-含有細胞系においてもっともよく発現されるタンパク質であるという事実

から、HPV16E7の検出はさらに意義深くなり、またE7は形質転換された表現型の維持に役立っている可能性もある。本発明のさらなる展開は、以下に記述される通りである。

例1-a 免疫に用いるMS-2/HPV16E7融合タンパク質の発現:

プラスミド構築および発現されたHPV16タンパク質の単離および精製は、Seedorfら:(1987), EM80 J. 8, 139-144 に記載されている。続いて用いられたHPV16E7タンパク質は、最初の8個のアミノ酸を欠いている。これを、MS-2ポリメラーゼの100個のアミノ酸およびポリリンカー配列からの9個のアミノ酸からなるN-末端リーダーペプチドに融合させる。純度約70%で用いた。

例1-b 酵素免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay)(ELISA):

100μlの7M尿素溶液に溶解した0.2~0.5μgの精製したMS-2、MS-2/HPV16E7またはMS-2/HPV18E7タンバ

ク質を各ウェルに入れたELISAプレート(デンマークNunc社製)を一晩室温でインキュベートした(室温で12時間)。プレートを硝酸緩衝食塩水(PBS)で2回洗浄した後に、2%濃度のウシ血清アルブミンPBS溶液にて37℃で1時間飽和させて、PBSにて3回洗浄した後、使用に供した。各ウェル内の各ハイブリドーマ細胞上清の40μlを室温で1時間インキュベートして、0.05%Tween 20を含むPBS(PBS/Tween)にて4回洗浄して結合されなかった成分を除去して、さらに、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(ハンブルクDianova社製)に結合させたヤギ抗-マウス免疫グロブリン(IgG、IgM)とともに1:3000の希釈で1時間のインキュベーションを行った(室温で1時間)。PBS/Tweenにて4回の洗浄を行って結合しなかった反応物を除去した後、結合したペルオキシダーゼの検出を行った。すなわち、H₂O₂/クロモゲン溶液(0.01% H₂O₂、1mg/ml オルト-フェニレンジアミン、0.1M 塩

特開昭64-61499 (S)

酸緩衝液、pH 5.5) とインキュベートして、10分後に50 μ l の1M H_2SO_4 を加えて酵素反応を停止させた後に492nmにて吸光度を測定した。

例2 ハイブリドーマの単離:

ミエローマ細胞で免疫したB a l b / c マウスからの脾臓細胞の融合からの約500個のハイブリドーマを既知の方法 [G. Koehler および C. Milstein: (1975), *Nature* 258, 495-497] にて得た。すなわち、NS-1 ミエローマ細胞 [Kearny ら: (1979), *J. Immunology* 123, 1548-1550] をB a l b / c マウスからの脾臓細胞と融合させた。これらの8週令のB a l b / c マウスは、2週間の間隔をおいて2回皮下接種をして、さらに融合の3日前に1回腹腔内接種をして免疫しておいた。各々の場合に、例1に記載のMS-2 / HPV 18 E 7 融合タンパク質の10~20 μ gを用いた。

HPV 18 E 7 に対する抗体を分泌したハイブリドーマは、二つの酵素免疫法 (ELISA) に

て、4個のハイブリドーマ (E 7 II、E 7 IV、E 7 V、E 7 VI) によって分泌されたMA b はMS-2 / HPV 18 E 7 融合タンパク質と反応したが、MS-2タンパク質単独とは反応しなかった。型特異性を試験するために、これら4個のハイブリドーマを例2の記載と同様にしてELISAにて調べた。ただし、固相上にはMS-2 / HPV 18 E 7 を吸着させた。ハイブリドーマE 7 IVのMA b は陽性に反応したが、このELISAにおける吸光度は対応するMS-2 / HPV 18 E 7 ELISAの吸光度の50%以下であった。

MA b をさらに分析するために拮抗的結合試験を例1-bに記載のELISAを用いて行った (固相にはMS-2 / HPV 18 E 7 タンパク質を用いる)。ここでは、ホースラディッシュペルオキシダーゼ結合物としてMA b E 7 IV、E 7 V およびE 7 VIの各々5 μ g/mlを用いた (Ishikawa ら: (1983), *J. Immunassay* 4, 209-327)。一方、非結合のMA b (E 7 II、III、IV

による平行試験にて検出することができた。すなわち、MS-2 / HPV 18 E 7 融合タンパク質を一方のELISAの固相に吸着させて、MS-2タンパク質のみを他方のELISAの固相に吸着させた。ホースラディッシュペルオキシダーゼと結合させたヤギ抗-マウス抗体とのインキュベーションによって、ハイブリドーマ上清からの結合抗体を検出した。上記の約500個のハイブリドーマのうち、約150個のクローンが「MS-2 ELISA」によるスクリーニングで陽性であり、10個のクローンは、さらに「MS-2 / HPV 18 E 7 ELISA」によっても陽性であった。これら10個のクローンのうち、8個は、2回のクローニングサイクルの後も安定しており、マウス腹腔マクロファージのフィーダー層 (feeder layer) 上に個々のクローンを形成した (表1)。

例3 HPV 18 E 7 特異性MA b の特徴づけ:

本質的にはToubinの方法 (Toubin ら: (1979), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 4350-4354) と同じであるウェスタンブロット法におい

およびVI) は、50 μ g/ml (相応するMA b 結合物の100%阻害に等しい) の連続希釈物を用いた。これらの実験 (第1図) において、ウェスタンブロットでHPV 18 E 7 と反応したMA b (MA b E II、E IV、E V およびE VI) はすべて相互に阻害する。HPV 18 E 7 -特異性ELISAにおいてのみ反応したMA b E 7 IIIは、他のMA b を明らかに少なく阻害しているが、特異性の異なる対照抗体 (第1図、C) と比較するとなお有意である。第1図において、比吸光度 (%A 492) を縦軸に、種々の拮抗的結合試験組合せを横軸にプロットする。Oは、非標識MA b の無添加 (100% A 492に対応) を表す。これらの結果から、MA b E 7 II、E 7 IV、E 7 V およびE 7 VIは、位相幾何学的にはきわめて類似しているが、同一のエピトープ (epitope) ではないことが示唆される。これはE 7 IVのHPV 18 E 7 との交差反応によっても示される。E 7 IIIは、近隣のエピトープと反応しうるのである。

例4 HPV 18 を含む細胞系におけるMA b に

特開昭64-61499(4)

よるHPV16E7の検出:

a) ウェスタンブロット

C a S K i細胞系[R. A. Patillo: (1977)、Science 198、1456-1458]およびSiHa細胞系[F. Friedl ら: (1979)、Proc. Soc. Experiment. Biol. and Med. 135、543-545]の細胞抽出物を10%SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって予め分離しておいた後に、既知の方法(Towbin ら: 前出)にてウェスタンブロットを行った。電気泳動法は、本質的には記述の方法[V. K. Laemmli: (1970)、Nature 227、680-682]を用いた。E7II、E7IV、E7VおよびE7VIを用いると、両方の細胞系において15kdの大きさのHPV16E7タンパク質を検出することが可能であった。

b) 免疫沈降

免疫沈降法は、N. Koch および G. J. Haemmerling: (1982)、J. Immunol. 128、1155-1157の方法によって行った。E7IIおよびE7IVはC a S K i細胞からのHPV16E7を沈降さ

せたが、HPVを含まない対照細胞とは、いかなる特異的沈降も認められなかった。

表1は、得られたMAb(E7I~E7VI)の性質を摘要したものである。

表1 HPV16E7特異性MAbのアイソタイプ(isotype)、およびそれらの反応性:

MAb	E7I	E7II	E7III	E7IV	E7V	E7VI
抗体アイソタイプ	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG1
MS-2/HPV16E7との反応性						
ELISA	+	+	+	+	+	+
ウェスタンブロット	+	+	-	+	+	+
E7タンパク質(CaSKiまたはSiHa細胞)との反応性						
ウェスタンブロット 非特異的	+	-	+	+	+	+
免疫沈降反応 非特異的	+	nd*	+	+	nd*	+

* 未試験

上記のMAb(E7I~E7VI)は、ヨーロッパ・コレクション・オブ・アニマル・セル・カルチャーズ(European Collection of Animal cell Cultures)にハイブリドーマのかたちで寄託されており、寄託番号88062429、88062430、88062431、88062432 および88062433 が付与されている。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明のMAbの拮抗的結合試験による分析結果を示す説明図である。

出願人代理人 佐藤一雄



ドイツ連邦共和国魏ースロホ、アルテ、ブルフザラー、
シュトラーセ、25



Consommation et
Affaires commerciales Canada

Consumer and
Corporate Affairs Canada

0149013001 D1-2

Bureau des brevets

Patent Office

Ottawa, Canada
K1A 0C9

(11) (C) **1,324,331**
(21) 571,552
(22) 1988/07/08
(45) 1993/11/16
(52) 195-1.112
C.L. CR. 167-35
167-45
167-46
167-101
167-129
167-139
195-1.105

(51) INTL.CL.⁵ C12P-021/08; C12N-005/18; A61K-039/395; A61K-047/48;
A61K-049/00; G01N-033/577; G01N-033/574

(19) (CA) **CANADIAN PATENT** (12)

(54) Monoclonal Antibodies Against E7 Protein of Human Type
16 Papillomavirus, a Process for their Preparation, and
their Use

(72) Oltersdorf, Tilman , Germany (Federal Republic of)
Röwekamp, Walter , Germany (Federal Republic of)
Seedorf, Klaus , U.S.A.
Gissmann, Lutz , Germany (Federal Republic of)

(73) Behringwerke Aktiengesellschaft , Germany (Federal
Republic of)

(30) (DE) Germany (Federal Republic of) P 37 22 967.2
1987/07/11

(57) 8 Claims

Canada

CCA 3254 (10-92) 41 7530-21-936-3254

- 1 -

HOE 87/B 027 - Ma 650

ABSTRACT:

Monoclonal antibodies against E7 protein of human type 16 papillomavirus, a process for their preparation, and their use.

Six monoclonal antibodies (MAb) against the E7 protein of human type 16 papillomavirus (HPV 16) have been generated. All these MAbs reacted in an ELISA with the HPV 16 E7 protein.


1324331

BEHRINGWERKE AKTIENGESELLSCHAFT HOE 87/B 027 Dr.LP/St

Specification

- 5 Monoclonal antibodies against E7 protein of human type 16 papillomavirus, a process for their preparation, and their use

- 10 Human papillomaviruses (HPV) have been found in association with benign (warts; condylomas in the genital region) and malignant (carcinomas of the skin and genital mucosa) epithelial neoplasms. Since papillomaviruses cannot be grown in culture, genetic engineering processes are required to obtain reasonable amounts of viral proteins.
- 15 These methods have been recently used to prepare polyclonal antibodies against some HPV-coded proteins. In turn, it was possible to use these polyclonal antibodies to detect some viral proteins in HPV-positive cell lines derived from cervical carcinomas (Seedorf et al (1987) EMBO J 6: 139-
- 20 144, D. Smotkin and F.O. Wettstein (1986) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 83, 4680-4684 and D. Smotkin and F.O. Wettstein (1987), J. Virol. 61, 1686-1689).

- The present invention relates to monoclonal antibodies (MAb) directed against the E7 protein, which is 15 kd in
- 25 size, of human papillomavirus 16 (HPV 16 E7). These antibodies can be used as diagnostic aid, active compound or active compound carrier. It was possible to obtain 6 hybridomas whose secreted MAbs (E7I - E7VI) have been characterized. All MAbs reacted positively in an enzyme-
- 30 linked immunosorbent assay (ELISA) in which an MS-2/HPV16 E7 fusion protein was adsorbed onto the solid phase (see below). No reaction was detected for E7III in the corresponding Western blot. In HPV 16-containing cell lines, E7 protein was detectable in the Western blot with E7II, E7IV,
- 35 E7V and E7VI, and in the immunoprecipitation with E7II and E7IV, while E7III and E7V were not tested (Tab. 1). In competitive binding studies, E7II, E7IV, E7V and E7VI showed strong inhibitory properties, whereas the inhibition by
- 

1324331

2

E7III was weaker but significant. A mixture of E7II, V and VI precipitated HPV 16 E7 from an in vitro translation mixture of HPV 16 E7-specific RNA, which likewise demonstrates the specificity of these Mabs. E7III cross-reacts with HPV18 E7. Detection of HPV16 E7 gains additional significance from the fact that E7 is the most highly expressed protein in HPV16- or HPV18-containing cell lines, and E7 might play a part in the maintenance of the transformed phenotype. The invention will now be described in relation to the drawing, in which Figure 1 is a graph showing the results of competitive binding tests of unconjugated Mabs E7II, III, IV, V and VI with conjugated Mabs E7IV, V and VI in an ELISA. The further development of the invention is described hereinafter.

1. a Expression of the MS-2/HPV16 E7 fusion protein used for immunization

The plasmid constructions and the isolation and purification of expressed HPV16 proteins are described in Sedorf et al. (1987), EMBO J. 6, 139-144. The HPV16 E7 protein which was subsequently used does not have the first 8 amino acids. It is fused to a N-terminal leader peptide which is composed of 100 amino acids of MS-2 polymerase and 9 amino acids from polylinker sequences and was used in a purity of about 70%.

1. b Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) procedure

ELISA plates (Nunc, Denmark) were incubated overnight at room temperature with 0.2-0.5 µg of the purified MS-2, MS-2/HPV16 E7 or MS-2/HPV18 E7 protein in 100 µl of 7M urea in each well (12 hours, room temperature). After the plates had been washed twice with phosphate-buffered saline (PBS), they were saturated with 2% strength bovine serum albumin solution in PBS at 37°C for one hour, and were thus, after washing 3x in PBS, ready for use. 40 µl of each hybridoma cell supernatant in each well were incubated at room temperature for one hour, unbound constituents were removed by washing 4x with PBS containing 0.05% Tween*

* Denotes trademark

1324331

- 3 -

20 (PBS/Tween), and further incubation for one hour with goat anti-mouse (IgG, IgM) immunoglobulin conjugated to horseradish peroxidase (Dianova, Hamburg) in a dilution of 1:3000 was carried out (1 hour, room temperature). After washing four times with PBS/Tween to remove unbound reactants, bound peroxidase was detected by incubation with H₂O₂/chromogen solution (0.01% H₂O₂, 1 mg/ml ortho-phenylenediamine in 0.1 M phosphate buffer, pH 5.5) and measurement of the extinction at 492 nm, after the enzyme reaction had been stopped after 10 minutes by addition of 50 µl of 1M H₂SO₄.

2. Hybridoma isolation

About 500 hybridomas from fusions of spleen cells from immunized Balb/c mice with myeloma cells were obtained in a manner known per se (G. Köhler and C. Milstein (1975), Nature 256, 495-497). This entailed NS-1 myeloma cells (Kearny et al. (1979), J. Immunology 123, 4 1548-50) being fused with spleen cells from Balb/c mice. These six-week old Balb/c mice had previously been immunized twice subcutaneously, at an interval of 2 weeks, and then once intraperitoneally, three days before fusion, in each case with 10-20 µg of the MS-2/HPV16 E7 fusion protein described under 1.

Hybridomas which secreted antibodies against HPV 16 E7 could be detected by parallel testing in two enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). In this, MS-2/HPV16 E7 fusion protein was adsorbed on the solid phase in one ELISA, and only MS-2 protein was adsorbed on the solid phase in the other. Bound antibodies from hybridoma supernatants were detected by incubation with goat anti-mouse antibodies conjugated with horseradish peroxidase. Of the abovementioned approximately 500 hybridomas, about 150 clones were positive on screening with the "MS-2 ELISA", and 10 clones were addition-

- 4 - 1324331

ally positive with the "MS-2/HPV16 E7 ELISA". Of these 10 clones, 6 were stable after two cloning cycles to generate individual clones on a feeder layer of mouse peritoneal macrophages (Tab. 1).

5

3. Characterization of HPV16 E7-specific MAbs

In the Western blot procedure, which was essentially that of Towbin et al. (1979), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76, 4350-4354, the MAbs secreted by 4 hybridomas (E7 II, E7 IV, E7 V, E7 VI) reacted with the MS-2/HPV16 E7 fusion protein but not with MS-2-protein alone. To test the type-specificity, the said 4 hybridomas were examined with an ELISA in a manner analogous to that described under 2., but with the MS-2/HPV18 E7 being adsorbed on the solid phase. MAbs of the hybridoma E7 IV reacted positively, but the extinctions in this ELISA were less than 50% of those with the corresponding MS-2/HPV16 E7 ELISA.

20

Competitive binding tests for further analysis of the MAbs were carried out with an ELISA as described under 1.b (MS-2/HPV16 E7 protein on the solid phase). In this, E7 IV, E7 V and E7 VI MAbs were used as horse-radish peroxidase conjugates (Ishikawa et al. (1983), J. Immunoassay 4, 209-327), 5 µg/ml of each, whereas the unconjugated MAbs E7 II, III, IV, V and VI were used in serial dilutions of 50 µg/ml (= 100% inhibition of the homologous MAb conjugate). In these experiments (Fig. 1) all the MAbs which reacted with HPV16 E7 in the Western blot (MAbs E II, E IV, E V and E VI) inhibit one another. The MAb E7 III, which reacted only in the HPV16 E7-specific ELISA, inhibits the other MAbs distinctly less but still significantly compared with a control antibody of different specificity (Fig. 1, lines C). In Fig. 1, the relative extinction (% A 492) is plotted on the ordinate, while the various competitive binding test combinations are plotted on the

35

1324331

- 5 -

abscissa, with 0 denoting no addition of unlabelled MAb (corresponding to 100% A 492). These results suggest that the MAbs E7 II, E7 IV, E7 V and E7 VI react with topologically very similar but not identical epitopes, as is also shown by the cross-reaction of E7 IV with HPV18 E7. It is probable that E7 III reacts with an epitope which is a near neighbor.

4. Detection of HPV16 E7 by MAbs in cell lines which contain HPV16.

a) Western blot

Western blots were carried out as known (Towbin et al. loc. cit.), after the cell extracts of the CaSKi cell line (R.A. Patillio (1977), Science 196, 1456-58) and the SiHa cell line (Friedl, F. et al. (1979), Proc. Soc. Experiment. Biol. and Med. 135, 543-545) had previously been fractionated by 10% SDS polyacrylamide gel electrophoresis, essentially as described (Laemmli, V.K. (1970), Nature 227, 680-682). With E7 II, E7 IV, E7 V and E7 VI it was possible to detect the HPV16 E7 protein which is 15kd in size in both cell lines.

b) Immunoprecipitation

Immunoprecipitations were carried out by the method of N. Koch and G.J. Hammerling (1982), J. Immunol. 128, 1155-1157. E7 II and E7 IV precipitated HPV16 E7 from CaSKi cells, whereas no specific precipitates were obtained with control cells without HPV.

Table 1 summarizes the properties of the MAbs obtained (E7 I - E7 VI).

1324331

- 6 -

	M A b	Antibody isotype	<u>Reactivity with</u>			
			MS-2/HPV16 E7 in		E7 protein (CaSKi or SiHa cells) in	
			ELISA	Western blot	Western blot	Immuno- precipitation
5	E7 I	IgG 1	+	+	unspecific	
	E7 II	IgG 2a	+	+	+	+
	E7 III	IgG 1	+	-	-	nd*
	E7 IV	IgG 2a	+	+	+	+
10	E7 V	IgG 1	+	+	+	nd*
	E7 VI	IgG 1	+	+	+	

Tab. 1: Isotypes of the HPV16 E7-specific MABs, and
their reactivity.

15

*) not done.

The accession numbers of the European Collection of Animal
Cell Cultures for the Mab's above which were deposited in
form of hybridomas are: (E7 II - E7 VI): 88062429, 88062430,
88062431, 88062432, 88062433.

1324331

7

THE EMBODIMENTS OF THE INVENTION IN WHICH AN EXCLUSIVE PROPERTY OR PRIVILEGE IS CLAIMED ARE DEFINED AS FOLLOWS:

1. Monoclonal antibodies (Mabs) E7 I, E7 II, E7 III, E7 IV, E7 V and E7 VI which react with the E7 protein of HPV16.
2. Hybridomas which secrete the MABs as claimed in claim 1.
3. A process for generating the hybridomas as claimed in claim 2, which comprises a mammal being immunized with E7 protein from HPV16, spleen cells being removed from such an animal and fused with NS-1 myeloma cells, and the hybridomas being selected for secretion of MABs against HPV16 E7.
4. The use of a MAB as claimed in claim 1 in a diagnostic aid.
5. The use of a MAB as claimed in claim 1 as a carrier for a pharmaceutical active compound.
6. The use of a MAB as claimed in claim 1 as a therapeutic.
7. The use of a monoclonal antibody as claimed in claim 1 in labeled form as a diagnostic aid or for analysis of tissues and body fluids and for radioimmunosintigraphy.
8. The use of a monoclonal antibody as claimed in claim 1 in labeled form as a therapeutic for radioimmunotherapy or for chemoimmunotherapy.



C

1324331

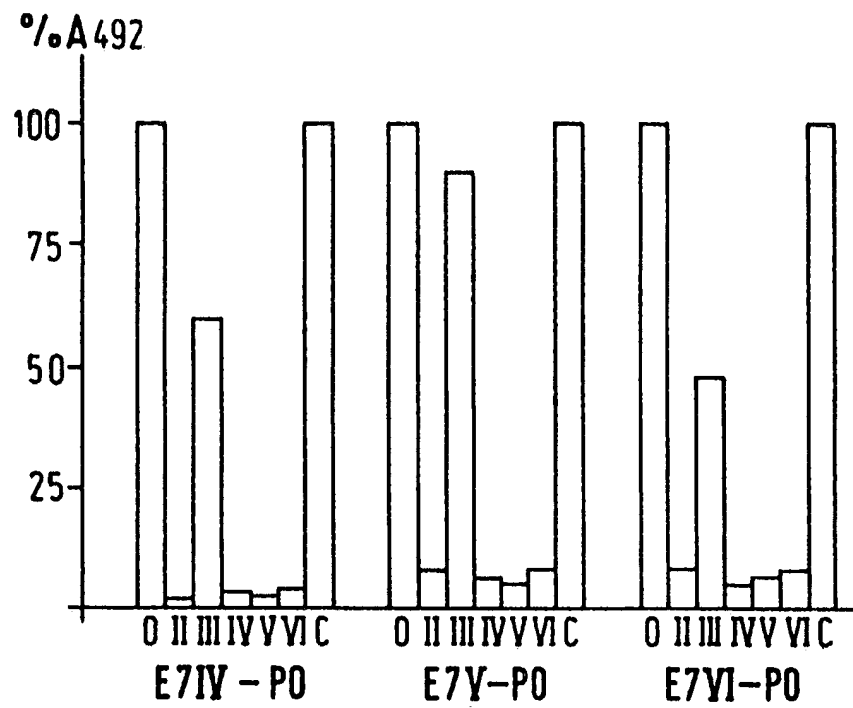


FIGURE 1

B:

By: Berushkin & Pav